

資料2 案1

保護基の脱離剤、化学合成時における不十分な合成体や分解物等の解析が求められる。規格設定では、日本薬局方に収載されているペプチド医薬品の各条を参考にできるであろう。ただし、分岐鎖を持つ複雑なペプチド製品では、従来の解析手法では十分な構造解析ができない場合があることに留意すべきである。

一方、タンパク質や融合タンパク質では、ICH Q6B に従った組換えバイオテクノロジー応用医薬品としての品質特性解析が求められる。

一方、生物活性の評価としては、*in vivo* での免疫誘導能を解析することが考えられるが、ヒトでの免疫誘導を動物で評価することは必ずしも容易ではない。また *in vitro* で免疫誘導能を生物活性として評価する標準的な手法が必ずしも確立されているとはいえない。

樹状細胞などの抗原提示細胞でのクロスプレゼンテーションを示すことができれば有効性を期待する情報となると考えられている。ただし、臨床効果との相関については十分に明らかにされていない点があることや手法的な限界も想定されていることも念頭におく必要がある。

3.がんワクチンの免疫学的評価

3.1 免疫応答性評価

がんワクチンの作用メカニズムとしては、投与されたがん抗原刺激により患者のがん細胞に対する免疫反応を誘導ないしは増幅することにより抗腫瘍効果を発現すると考えられている。

また、臨床試験、特に Proof of Concept (POC) 等々を評価する初期臨床試験では、免疫反応性のモニタリングが重要な評価項目となる。特に薬理学的効果や投与する抗原に対する免疫反応性を示すことが、がんワクチンの有効性を裏づける必要条件となるデータとなっていくことが想定される。また、有効性の評価と相関が認められた場合には、患者選択のための指標となることも想定され、コンパニオン診断薬の開発の必要性も念頭に置く必要があると考えられる。免疫反応性のモニタリングの一つとして、抗原特異的な T 細胞の応答性や標的とするがん抗原に対する液性免疫が測定される。但し、液性免疫に対する応答性のみでは、がん細胞に対する細胞性免疫応答の評価には必ずしも結びつくわけではないため、がんワクチンで想定されている免疫応答を評価する代替指標とすることは困難であろう。

(1) 評価方法について

長鎖ペプチド以上の大きさのがんワクチンの投与に対して期待されている免疫応答には、複数のステップが介在していると考えられている。まず、がん抗原又はがん抗原の一部であるペプチド及びタンパク質等が、樹状細胞などの抗

資料2 案1

原提示細胞による細胞内プロセッシングを受けた後、HLA クラス 1 依存的に抗原提示される。続いて、抗原提示に対応する特異的な T 細胞受容体をもつ細胞傷害性 T 細胞が活性化され、がん細胞を攻撃する。同時に、HLA クラス 2 依存的にヘルパー T 細胞が活性化され、細胞傷害性 T 細胞の活性化や液性免疫の活性化も行くとされる。がんワクチンの開発に際しては、このような複数の免疫担当細胞の活性化を評価することが重要であり、以下のような複数のアッセイ法を用いて解析することが望ましい。特に、細胞傷害性 T 細胞やヘルパー T 細胞の応答性を区別して評価することが重要と考えられる。

- 目的がん抗原によって増幅する T 細胞サブセット（CD8 陽性や CD4 陽性細胞）の定量
- テトラマーアッセイによる、細胞傷害性 T 細胞（CD8 陽性 T 細胞）及びヘルパー T 細胞（CD4 陽性 T 細胞）細胞数の測定。ただしクラス II テトラマーについてはそれほど多くの経験が蓄積されていないことから慎重な評価が必要と考えられる。
- ELISPOT アッセイによる抗原特異的にサイトカインを放出する T 細胞の検出。
- ELISPOT と同様に *in vitro* で T 細胞を培養し、抗原刺激によるサイトカイン産生と同時に Monensin 等の細胞内タンパク質輸送を阻害する薬剤を用いてサイトカインの細胞外への放出を阻害することにより細胞内に蓄積され、細胞内に蓄積したサイトカインを蛍光標識抗体で標識し、フローサイトメトリーを用いて解析することにより抗原刺激に応答する細胞を検出する（細胞内サイトカインアッセイ）。CD8 や CD4 の発現を同時に解析することも可能である。
- がんワクチンとして長鎖ペプチドやタンパク質を用いる場合、免疫応答によりどのようなペプチドが認識されるようになるかあらかじめ特定できない場合がある。このような場合に免疫応答により認識されるペプチドを特定するためにいくつかの方法が用いられている。例えばがん抗原の一次配列を網羅するようなペプチドライブラリーを用いて T 細胞を刺激し ELISPOT アッセイを行うなどが行われている。ペプチドライブラリーの感度等について十分な評価を行う必要がある。
- ペプチド特異的 CD8 陽性細胞や CD4 陽性細胞の末梢血中の頻度が極めて低い可能性がある。高感度に測定するために細胞の濃縮操作なども行われている。濃縮操作によってもとの血液中の比率と異なることを確認する必要がある。

資料2 案1

細胞応答性を解析する以上のアッセイ法は単なる例示であり、がんワクチンによって引き起こされる免疫応答の解析で実施しなければならないアッセイというわけではない。特にがんワクチンの免疫応答性の評価系については開発が急速に進歩しており、より最適な手法を用いることも可能となることが想定され、また対象としている抗原によっても利用可能な試験法が異なると考えられる。

また、免疫応答に寄与する T 細胞数は末梢血中では極めて少ないとされ、上記のモニタリング法の感度を上げる様々な工夫が試みられている。高感度化した試験を実施する場合には試験法が適切に T 細胞集団を反映する方法であることを示す必要がある。

(2) 開発戦略について

特定の TCR をもつ T 細胞に反応する HLA クラス 1 及び 2 に抗原提示されるペプチドを結合させたテトラマー解析により、がん抗原に反応する HLA 型の特定や HLA 拘束性のがんワクチンの活性評価が可能になるかもしれない。がんワクチンの免疫応答性の評価ではどのような HLA 型の患者に有用な治療であるのかを明らかにすることが重要と考えられる。

(3) 評価方法のバリデーションについて

抗腫瘍効果に関連すると考えられる免疫応答性を評価するためのアッセイ法の開発や標準化が必要とされる。特に、生細胞の反応性を解析することから、検体の採取から輸送による影響や凍結して保存する場合の凍結操作の影響について評価をしておく必要がある。また、がんワクチンの投与を受けた患者の経時的な変化を測定するために、異なる日に測定された T 細胞の応答性を比較可能なように測定法の標準化ができておく必要がある。

開発したアッセイ法のバリデーションでは、試験実施施設が異なっても、免疫応答のバラツキを十分コントロールできることを示す必要がある。アッセイ条件、感度と特異性のコントロール、*in vitro* での T 細胞の増幅工程、陽性及び陰性コントロールの設定、カットオフ値の設定、標的分子による対象患者の選択の要否、試験結果を解析するための統計分析手法等については、臨床試験を開始する前に明確にしておく必要がある。

テトラマーアッセイや ELISPOT アッセイなどは、通常、患者の末梢血よりリンパ球を含む検体を分離して、試験に供する。腫瘍組織からリンパ球を採取してこれらの T 細胞応答性を解析することにより、期待される腫瘍組織内での免疫応答をモニタリングすることにつながるかもしれない。場合によっては腫瘍

資料2 案1

近辺のリンパ節中の細胞傷害性 T 細胞やヘルパー T 細胞数、さらには制御性細胞 (Treg) 等も免疫応答のモニタリングの対象となりえる。

末梢血を用いてがん抗原特異的あるいは特定の標準抗原に対する液性免疫の継続的な変化をモニタリングすることが、患者の免疫状態の応答性を評価するのに有用であるかもしれない。

3. 2. がんによる免疫抑制

宿主免疫反応から逃れるために、がん細胞はさまざまな因子を介した免疫抑制作用を発揮するとされている。また、がん化学療法は宿主免疫応答性を抑制することが多い。これらの免疫抑制に対して、がん患者の免疫抑制状態からの解除を目的とした併用薬が使用される場合もありうるが、このような併用薬を使用する場合にはがん免疫の応答性のみならず、免疫抑制状態からの解除をモニタリングすることも有用と考えられる。

がんによる免疫抑制にはいくつかの因子が介在するとされており、その一つとして Treg 細胞の関与が報告されており、Treg 細胞によりがん特異的な細胞傷害性 T 細胞やヘルパー T 細胞の阻害やアポトーシスが起これるといわれる。そのために末梢血や腫瘍内の Treg 細胞数をモニタリングすることによりがん免疫が有効に機能するか評価する上で有用である可能性がある。ただし Treg 細胞には複数の種類があることが知られており、がんによる免疫抑制にどの Treg 細胞が最も重要に作用しているかについて明確になってはいないと考えられる。また、末梢血中の Treg 細胞のみならずがんに浸潤している Treg サブセットを解析することにより有用な情報が得られる可能性もある。

Treg 細胞以外にもがん免疫抑制に関与する Th17 サブセットや PD-1/PD-L1 応答などが提唱されているものの、これらの因子が、がんによる免疫抑制への寄与の程度及び臨床的な重要性については不明の点も多い。しかしながら、がんワクチンの開発において、定量的にモニタリング可能な解析手法により、想定したがん免疫抑制機構の解除を確認することが臨床的有効性との相関を含めて必要とされる。このために T 細胞の免疫応答性のみならず、標準抗原等への免疫応答性の解析、あるいは遅延型過敏反応の変化のモニタリングも考慮するべきと考えられる。

がんワクチンで目的とするがん抗原が特定されていない場合には、インフルエンザウイルスや破傷風菌などに対する遅延型過敏反応を測定することにより、患者の免疫応答能の強さを評価することも有用な場合もあると考えられる。免疫応答性の強さを評価するために、既知抗原（例えば、がんワクチンの融合タンパク質として利用される keyhole limpet hemocyanin, 液性免疫としての破傷風抗原、細胞性免疫の指標としての phytohemagglutinin への応答性）に対する

資料2 案1

応答性を解析することも有用と考えられる。このように、目的とするがん抗原以外の既知抗原に対する患者の免疫応答性を解析することは、患者の免疫状態（免疫抑制状態）のモニタリングや抗体医薬品等の併用薬を用いた免疫抑制からの解除を目指した治療の有効性の評価にも有用な情報が得られる可能性がある。

4. 非臨床安全性試験で考慮すべき事項

非臨床試験でがんワクチンの免疫応答の時間経過を評価することは、がんワクチンに想定される有効性を示唆することにつながり、がんワクチンの用法及び用量選択の助けとなるであろう。

一般的に、動物で得られた安全な投与量がヒトでの安全性のある投与開始量として設定されるような、がんワクチンで予測される作用機序と免疫応答の種特異性の差異に基づく変換係数のようなものは現時点で無い。開発者は、必要な科学的データと共に、提案する臨床試験における開始用量、用量の増量法、投与スケジュールの決定に用いた考え方の妥当性を説明する必要がある。

タンパク質がんワクチンの毒性評価については、ICH S6R「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」を参照することが望ましい。化学合成ペプチドでは、ペプチドは体内で速やかに分解されることや核内への移行が想定されにくいこと等を考慮して合理的な評価を行うべきであろう。

5. 臨床試験

5.1. 臨床試験計画にあたって考慮すべき事項

がんワクチンの早期臨床試験では、最適投与量、投与スケジュール、生物学的及び臨床的効果、安全性プロファイルを明らかにすることが目的となる。一方、後期臨床試験では、対象とする患者集団での有効性と安全性を確認することが目的となる。

5.1.1 臨床試験での被験者（患者）の選択

従来抗悪性腫瘍剤の初期臨床開発では、他に治療法のない進行又は転移性の各種がん患者を対象とし、最大耐容量（MTD）と最適投与スケジュールの設定と共に、がんの縮小（あるいは対象とするがんの反応性）を通じての臨床効果を含めた評価が行われている。したがって、通常、一般的には、従来細胞毒性を有する抗悪性腫瘍剤を用いた臨床試験での最大耐容量の評価は、一定の短期間の観察期間で実施され、最適な用法・用量の探索に関しては、早期の臨床効果の評価ポイントであるがんの縮小効果で評価される。その後の臨床開発では、特定のがん種を対象として、有効性と安全性の評価を目的として大規模

資料2 案1

なランダム化比較試験が実施される。他に治療法のない既治療の進行がん患者を対象とした有用性が評価されてから、未治療患者に対する有用性や術前・術後の補助療法としての有用性が評価されることが多い。

以上のような従来の抗悪性腫瘍剤と異なり、がんワクチンの臨床開発で、抗腫瘍免疫反応による活性や有効性を示すためには、一般的に数カ月の時間を要すると考えられており、他に治療法のない既治療のがん患者を開発対象とする場合には、がんワクチンの遅延性の効果が発揮されてくるまでに腫瘍の増大が起きる可能性があり、結果的にがんワクチンの免疫賦活化作用を確認する前に臨床試験の継続が困難になるといった懸念点がある。場合によってはがんワクチンの作用機序に拮抗しない抗悪性腫瘍剤腫瘍等との併用も考慮する必要がある。また、他に治療法のない既治療のがん患者は、細胞毒性や免疫抑制作用を有する化学療法や放射線治療などの前治療やがんの進行により免疫応答性が低下している可能性があり、目的とするがんワクチンに対する反応性を抑制し、適切な評価を行うことが困難になりかねない。

一方、手術等で病巣を切除し、一定期間の間は再発が想定されない切除可能ながん患者を開発対象とする場合、がんワクチンによって誘導される免疫反応を検出できるだけの十分な試験期間の確保が可能となる。しかし、有効性の検証で疾患の再発までの期間を評価するためには、試験期間が非常に長期間にわたることになる。

したがって、再発又は転移性のがん患者を開発対象とする場合と術後の再発防止を目的とする患者を対象とする場合と比較検討し、治験計画を検討する必要がある。

細胞毒性を有する抗悪性腫瘍剤の初期臨床開発では、他に標準的な治療薬が存在しない様々ながん種の患者集団を対象として臨床試験が実施される場合がある。初期臨床試験の主要な目的は最大耐容量の決定と被検薬の安全性プロファイルを明らかにすることである。したがって、がん種ごとに異なる臨床効果が得られる可能性があるが、そのような差異については受け入れ可能とされ、被検薬の毒性が忍容可能であることが示されれば、次相の臨床試験に移行することができる。がんワクチンの開発においても、共通のがん抗原を有する複数のがん種の患者集団を対象とした初期臨床を実施することも可能と考えられるが、がん種によってはがんワクチン投与後に増悪したと判断せざるを得ないデータが得られることも想定されるが、必ずしも試験を中止する必要があるとい

資料2 案1

うわけではない。さらに、がんにおける臨床ステージの違いやがんワクチンの臨床試験以前における治療の内容はがんワクチンの効果や安全性の判断に大きく影響を与える可能性があることを留意するべきである。がんワクチンの開発初期での患者集団の選択や様々な患者集団を対象として試験を実施する場合にはがんワクチンの特性及びがんワクチンの免疫応答性や併用する医薬品の特性から、前治療薬の投与からの休薬期間の設定など考慮する必要がある。

がんワクチンの開発では、特定のがん組織抗原を発現している患者を対象とする場合がある。臨床試験での免疫応答性のモニタリングにおいて特定の主要組織適応抗原（MHC）を利用した解析が行われる場合には、当該 MHC を有する患者を対象とする場合もある。あるいは特定の MHC を持つ患者との層別解析を行うこともありえる。

5.1.2 目的抗原等による患者集団のエンリッチメントと患者選択のための診断手法の開発

がんワクチンの臨床開発にあたっては、患者の選択や治療経過でのモニタリングのために、目的とするがん抗原の発現やその定量的な変化を測定可能な試験法を同時に開発することも考慮する必要がある。特にがんワクチンの免疫反応性の評価に使用可能な試験を開発する場合には、定量性が高く、治療経過の変化を測定可能な試験法を開発することが必要とされる。なお、当該試験法の開発に際しては、「コンパニオン診断薬等及び関連する医薬品の承認申請に係る留意事項について」（薬食審査発 0701 第 10 号 平成 25 年 7 月 1 日）及び「コンパニオン診断薬等及び関連する医薬品に関する質疑応答集（Q&A）について」（事務連絡 平成 25 年 7 月 1 日）等を参照する必要がある。

5.1.3 投与経路及び用法・用量

臨床開発初期では、投与量及び投与スケジュールの最適化、併用薬を含めた被検薬による目的とする免疫反応の誘導又は増幅の確認、免疫寛容及び免疫寛容からの離脱の評価、並びに有効性に相関することが期待される免疫応答データの取得が目的となる。

投与方法としては主に皮下投与が行われているが、皮内投与や腫瘍内投与、場合によってはリンパ節投与なども試みられている。最適な投与方法については治験薬の投与量やアジュバントとの併用の有無など様々な要因によって左右されると考えられるが、開発初期では期待する免疫応答性との相関を指標として探索する必要がある。がんワクチンの有効性を評価するための臨床試験では、

資料2 案1

免疫応答性の程度や応答性の時間経緯と臨床的有効性の指標との相関性について評価を行うことが必要である。

5.1.4 併用薬剤

がんワクチンの抗原性を増強するために、製剤化の過程でアジュバントが用いられる場合がある。アジュバントとしては水酸化アルミニウムのような沈降性アジュバント、フロイントアジュバントのような油性アジュバントや油性アジュバントから精製された製品と多様なものが用いられている。更に、トールライクレセプター (TLR) を活性化する核酸なども用いられている。がんワクチンとアジュバントを組み合わせる前に、アジュバント単独での毒性及びアジュバントとがんワクチンを抱合させた時の毒性を適切に評価するために非臨床試験を実施しておく必要がある。これらの非臨床試験のデザインは臨床試験のレジメンや投与法に沿って実施される必要がある。がんワクチンの初期臨床試験で用いる前に、当該アジュバントによる免疫反応の昂進又は抗原性発揮の促進に関する証拠及び投与量の選択に必要な用量反応性を見ておく必要がある。

従来のアジュバントとは異なる免疫賦活活性を持つ製剤や添加剤をがんワクチンの抗原性を増強するために使用する場合には、非臨床試験を通じて、期待される免疫賦活能を示すデータや安全性データを示さなければならない。

一方、がんワクチンの適用において大きな課題とされるのが、がん患者でのがんによる免疫抑制効果とされている。このためにがんワクチンの臨床試験ではがんによる免疫抑制を解除するための併用薬が用いられていることが多い。あるいはがんに対するより高い免疫応答を惹起するためにアジュバントの使用やマクロファージ・顆粒球コロニー刺激因子などのような免疫賦活化作用のある薬剤の併用も行われることもある。免疫抑制解除を目指した薬剤とがんワクチンを併用した臨床試験では再発又は転移性のがん患者を対象とする場合に、併用薬によってどの程度有効に免疫抑制解除が達成されているかをモニタリングすることが重要である。

5.1.5 複数の抗原ワクチン

がん細胞は宿主からの攻撃を逃れるために自身のがん特異抗原を隠すことが知られており、これを回避するために複数のがん抗原をカクテルのように混合して投与する、カクテルがんワクチンの開発も行われている。カクテルがんワクチンの開発では、カクテルの抗原ごとに免疫応答性が異なる可能性があり、

資料2 案1

また患者ごとに各抗原に対する応答性が異なる可能性があるが、各抗原について、必ずしも個別に投与して有効性や安全性を評価する必要はないと考えられる。しかしながら、各抗原について、投与する合理的な根拠が説明される必要がある。また、特定の抗原に対する応答性が大きく異なる場合にはカクテル化の妥当性を検証する必要がある。

5.1.6 がんワクチン投与の臨床試験開始直後のがんの進行や再発についての対応（ワクチンの遅発効果）

通常のがん化学療法では、治療開始後のがんの増大などにより患者の病状が進行した場合には、有効性が認められないと判断される。一方、がんワクチンによる治療では、その免疫誘導メカニズムから抗腫瘍免疫が発揮されるようになるまで一定の期間が必要とされる。したがって、がんワクチンの臨床試験では従来のがん化学療法とは異なる試験の継続判断が必要となるであろう。臨床試験において、腫瘍の進行が認められた場合にどの程度の進行であれば試験の継続を可とするのかはあらかじめ基準の設定が必要であろう。一方、中枢神経系への転移など被験者に生命を脅かすような病態の進行が認められた場合には試験の継続を中止すべきである。

このような状況に対応する一つのアプローチの仕方としては、治療中のがんワクチンの投与を継続するとき、臨床上の症状の進行の程度やどの部位でがんが進行したかにより試験の継続を判断するための基準をあらかじめ試験プロトコールに設定しておくことが望ましい。病態進行の兆候が見られたとしても試験を継続する患者救済措置を提供するような臨床状態としては次のようなものがあげられる：

- 用量制限毒性（DLT）が認められないこと。全ての毒性所見がプロトコールの適格性基準から逸脱していないこと
- 試験の実施により全身状態の悪化が認められないこと
- 目的とする効能に関して代替となる治療法がないこと
- がんが進行したとしても、緊急治療に遅れが生じないこと
- 試験の開始に際してがんワクチンの効果が発揮されるまでに一定の期間が必要であることを示唆するデータ

5.1.7 がんワクチン治療に付随して実施されるがん治療

最新のがん免疫療法に関する様々な知見から、がんワクチンが患者にがん抗原に対する免疫応答を惹起するのに対して、腫瘍による様々な免疫抑制効果がと

資料2 案1

がんワクチンの効果を減弱したり、効果をなくしてしまうと考えられている。したがって、がんワクチンの臨床試験で併用される抗悪性腫瘍薬に関して、想定される抗腫瘍効果の相互作用を十分に考慮して、投与スケジュールや投与量などを検討する必要がある。

がんワクチンが適用対象とするがん種によっては、すでに標準的な化学療法等が確立している場合がある。その化学療法によりがんワクチンの効果が影響を受けることが十分予測できる場合には、標準治療との治療スケジュールのタイミングを十分に検討する必要がある。特にがん化学療法に引き続いてがんワクチンの臨床試験を実施する場合には、化学療法による免疫抑制効果がどの程度持続するのかを考慮するべきである。一方がんワクチンの臨床試験に引き続いてがん化学療法を実施する場合には、がんワクチンの効果を減弱しないようなタイミングで標準治療を開始することが望ましい。

5.2 がんワクチンの早期臨床試験

がんワクチンの早期臨床試験での主要な目的は、1) 薬剤の局所刺激性などの安全性を評価すること、2) 薬剤の最適投与量及び投与スケジュールを決定すること、3) がんワクチンとしての開発を継続するに足る免疫応答がおきていることを示すデータを提供すると共にそれによる効果が期待されることを確認することである。

5.2.1 試験開始投与量と投与スケジュール

がんワクチンの臨床試験での投与開始量及び投与スケジュールに加えて、投与量の増量スキームに関しては、非臨床試験で得られたデータに基づいてデザインすること。一方で、既に同様の製剤でヒトでの臨床試験が行われており、当該製品について外挿することが可能な場合にはその臨床経験に基づいてデザインすることもできる。

In vitro 及び in vivo での非臨床試験によるがんワクチンの有効性の根拠となる試験 (POC) データが得られており、そのデータに基づいて臨床試験デザインの妥当性を示すことが望ましい。非臨床試験では、がんワクチンの毒性試験ではその安全性を明確にできるようにデザインされている必要がある。その結果を踏まえ、臨床試験における投与開始量やその後の投与スケジュールが示される必要がある。非臨床試験でがんワクチンの生物学的効果を示すために用いられた投与量と同等及びそれを超える安全域を非臨床試験の毒性評価試験から担保する必要がある。非臨床試験の目的は、可能な限り無毒性用量 (NOAEL) と

資料2 案1

しての投与量のレベルを確認することであり、そのことによって関連する生物学的あるいは生理学的パラメーター（体重、抗原の発現、臨床病態、病理学など）を考慮して臨床試験での開始投与量を示すことが必要である。

正常組織に発現している目的抗原や正常組織にがんワクチンペプチドと類似のペプチド配列を持つタンパク質が存在する場合に、がんワクチンによりそれぞれの関連するタンパク質を介して毒性が発揮される可能性がある。したがって、ヒト正常組織に目的とする抗原が存在するかを網羅的に解析することが安全性の予測に有用である。ペプチドワクチンでは、ターゲット分子のペプチド配列のホモロジー検索が、がんワクチンに関連する毒性の予測に有用と考えられる。

臨床研究等で既に開発しようとしているがんワクチンがヒトへの投与経験がある場合には、既に主要なヒトでの安全性や活性データが得られている主張できる場合もある。しかし、医薬品開発での臨床試験の安全性や有効性評価の参考に出来るかどうかは、実施され臨床研究のデザインや投与量、投与スケジュールなどがどのように設定されたかにもよる。

5.2.2 追加免疫と免疫維持

開発者は、長期に亘る免疫原性を維持し、また臨床効果をより高めるために追加免疫により免疫状態を維持するための投与方法を開発することを目指す場合も想定される。その様な治療法を評価するための非臨床試験の実施が推奨され、さらに治療法の安全性及び効果を支持するための追加の臨床試験をデザインする必要がある。

がんワクチンの臨床開発では、持続的な免疫活性化を目指して、長期にわたる追加免疫が行われることもありえる。このような場合に非臨床安全性試験には動物の寿命による限界も考慮すること。

5.2.3 最適投与量の設定

現時点では、僅かな例外を除いてがんワクチンで最大耐性毒性が同定されたことは無いと考えられる。このような臨床試験では、投与可能な最大投与量は毒性というより製品の製造上の限界や物理的な観点（解剖学的な）からの制限を受けることになり、従来の3+3用量試験が必ずしも妥当な方法とはいえないことが多い。合理的な理由があれば、他の試験デザインを考慮することも可能であり、その方が妥当である場合もある。

資料2 案1

ある種のがんワクチンの比較的受容可能な安全性プロファイルを得るためには、用量をさらに上げた増量や継続的な再評価を行うなど、3+3 用量試験に代わる別の投与量の増量法を考慮すべきである。新たに用量設定を行うような試験デザインを実施する場合には、プロトコールに増量の最終ポイント（データによって支持される）を決めるための受け入れ可能な基準を設定しておく必要がある。どのような投与量の増量方法を採用するにしても、試験プロトコールには用量制限毒性を明確にしておく必要があり、治療停止基準や被験者の安全性を確保する観点から試験の中止のためのルールを決めておく必要がある。用量制限毒性が示されないと想定される場合や達成できなかった場合には、免疫応答性などの他の結果から投与量を最適化しておくことが続いての試験での投与量を決定するために有用である。

がんワクチンを他の治療薬や医療機器とあわせて試験する場合、あるいは侵襲的な手法で投与する場合、さらには特別な安全性上の懸念があるような手術部位からの投与を行う場合などでは、がんワクチンそのものよりも併用薬や機器との安全性プロファイルの方が重要な要素になる場合があり、検討が必要とされる。

5.2.4 開発初期における単群試験とランダム化第Ⅱ相試験

早期臨床試験においてがんワクチンの生物活性を理解するための試験デザインでは、その後の大規模なランダム化された有効性評価のための臨床試験へ移行していくために十分にデータを提供できるように設計する必要がある。

「固形がんの治療効果判定のための新ガイドライン（RECIST ガイドライン改訂版 1.1）」は固形がんに対する治療の奏効率を判定するためのガイドラインとして広く利用されているが、腫瘍縮小を主な評価項目として設定されている。

がんワクチンのように臨床試験開始直後では腫瘍縮小を期待できないような製品の場合に従来の標準治療薬を対照として、がん縮小を比較すると効果をしめせるようなデータが得られない可能性がある。もし腫瘍縮小を主要評価項目とする場合には、期待される免疫応答等を考慮し適切な効果判定に必要な期間を設定することが望ましい。RECIST ガイドラインではヒストリカルな比較についても記載されているが、がんワクチンの作用メカニズムから、がんワクチンを非対照試験として実施することは次の有効性評価のための臨床開発へとつなげていくための意味のある臨床データが得られない可能性もある。

資料2 案1

初期臨床試験では比較的少数の患者集団を対象として試験が行われることが多く、患者集団サイズの制限より、ランダム化比較試験では、治療薬としての治療効果を十分に示すほどの統計的な検出力を保持することが難しい可能性がある。しかしながら、有効性を評価するための大規模な臨床試験を行うための適切な治験集団サイズの決定や治療効果の推定などを行うために、ランダム化された初期臨床試験が有用なデータを提供してくれる可能性があり、また免疫寛容などのネガティブな効果が想定される場合には、得られたデータを免疫寛容の有無を議論するために用いることも可能である。

また後期臨床試験で、がんワクチンの有効性を評価する場合には、全生存期間や場合によっては無増悪生存期間（PFS）を全生存期間の代替評価項目とするなど通常の抗がん剤と同様の評価を用いることができると考えられる。もし、がんワクチンの特性として、有用性が見られるまでに時間を要するために評価期間をより長期にわたって見る必要がある場合には、その適切性を説明されなければならない。

6.その他

本文書ではがんワクチンの臨床評価について主としてペプチド/タンパク質を用いた製品を対象として議論されているが、がんワクチンの開発は、細胞治療、遺伝子治療、核酸医薬品など多様な製品が開発中である。これらの製品ではターゲットなるがん抗原が特定されている場合と、がん細胞全体を投与するといった抗原が必ずしも特定されていない製品もある。そのような多様な製品の評価では免疫応答性の評価や有効性の評価は製品の特性に応じたケースバイケースの判断をせざるを得ない場合も多いと想定される。本文書はそのような製品の評価において参考になる部分については利用されることが望ましい。

資料2 最終案

治療用がんワクチンの評価における考慮事項に関するガイドライン（案）

目次（2014.3改訂案）

- 1 はじめに
 - 1.1 背景
 - 1.2 がんワクチンの作用メカニズム
 - 1.3 適用範囲
- 2 ペプチドやタンパク質からなるがんワクチンの品質
- 3 がんワクチンの免疫学的評価
 - 3.1 免疫応答性評価
 - 3.2 免疫応答を評価するための検体
 - 3.3 がんによる免疫抑制
 - 3.4 免疫応答性のモニタリング
- 4 非臨床安全性試験での留意事項
- 5 臨床試験
 - 5.1 臨床試験計画にあたっての留意事項
 - 5.1.1 臨床試験での被験者（患者）の選択
 - 5.1.2 目的抗原等による患者集団のエンリッチメントと患者選択のための試験法
 - 5.1.3 投与経路及び用法・用量
 - 5.1.4 併用薬剤
 - 5.1.5 複数の抗原ワクチン
 - 5.1.6 がんワクチン投与の臨床試験開始直後のがんの進行や再発についての対応（ワクチンの遅発効果）
 - 5.1.7 がんワクチン治療に付随して実施されるがん治療
 - 5.2 がんワクチンの早期臨床試験
 - 5.2.1 試験開始投与量と投与スケジュール
 - 5.2.2 追加免疫と免疫維持
 - 5.2.3 最適投与量の設定
 - 5.2.4 開発初期における単群試験とランダム化第2相試験
 - 5.3 がんワクチンの後期臨床試験
 - 5.3.1 後期臨床試験での免疫学的応答性モニタリング
- 6 その他

資料2 最終案

治療用がんワクチンの臨床評価等における考慮事項に関するガイドライン（素案）

1.はじめに

本ガイドラインはがんワクチンの臨床試験の開始に当たっての留意点について考察したものである。また、がんワクチンはがん細胞に特異的に発現するがん抗原に対する特異的な免疫反応の誘導や増幅を目指したものであり、本文章では主としてがん抗原特異的ペプチド、ペプチドとキャリアタンパク質との融合タンパク質、及びがん抗原タンパク質等を対象としたがんワクチンの臨床開発における評価事項について言及する。

1.1 背景

近年、ゲノム解析及びがん抗原タンパク質等の網羅的な解析により、がん細胞に特異的に発現するがん抗原の理解が急速に進んでおり、多くのモノクローナル抗体医薬品の開発に貢献している。抗腫瘍抗体医薬品に加え、がん抗原に対する患者の免疫反応を亢進させることによるがん治療の試みが行われている。このがん特異的な獲得免疫の誘導及び増幅を行う治療法として開発されている製品群は多岐にわたっており、がん抗原ペプチド、がん抗原タンパク質、及びがん抗原ペプチド(単鎖ペプチドと長鎖ペプチド)と免疫活性化能の高いタンパク質との融合製品等を始めとして、がん抗原処理した抗原提示細胞としての樹状細胞やがん抗原を導入した患者がん細胞等の細胞治療、がん抗原遺伝子を導入したウイルスベクターなどの遺伝子治療等が開発されつつある。また、がんに対する免疫の活性化を目的として、免疫賦活化作用のある顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) 等のサイトカイン又はアジュバントとがんワクチンの併用投与も試みられている。

がんワクチンの開発にあたり、留意点として例えば以下のような点が挙げられる。

- 目的とするがん抗原が特定されている場合とされていない場合で、免疫応答性の評価方法が変わりうること
- 従来の細胞毒性型の抗悪性腫瘍薬の免疫抑制作用等を有する場合、がんワクチンの期待される作用と相反する臨床効果を持つ場合もあること
- 抗悪性腫瘍薬剤投与後に免疫抑制が惹起される可能性があること

1.2 がんワクチンの作用メカニズム

多くのがんワクチンで想定されている作用メカニズムは、患者の体内又は体外においてがん抗原等が抗原提示細胞に暴露することにより引き起こされる、

資料2 最終案

生体免疫反応の誘導に依存している。すなわち、抗原提示細胞中でプロセッシングを受けたがん抗原が抗原提示細胞の細胞膜表面で抗原提示され、当該がん抗原に特異的な T 細胞応答を誘導する、あるいは既に患者が持っている抗原特異的な T 細胞応答性をペプチド等の刺激により増幅させるというものである。この T 細胞応答には、がん抗原特異的な細胞傷害活性を持つ細胞傷害性 T 細胞の誘導及びがん抗原特異的な免疫反応の促進作用をもつヘルパー T 細胞の誘導等が含まれる。特にがん細胞に対する傷害作用では、抗原特異的な細胞傷害性 T 細胞の増幅が薬効の発現に重要とされる。

がんワクチンは、抗原提示細胞を介して誘導されるがん抗原に対する応答性を誘導するものである。これらの抗原提示細胞はヒト白血球抗原 (HLA) 拘束性に T 細胞へ抗原決定基を提示し、提示を受けた細胞傷害性 T 細胞は同じ抗原決定基を発現している腫瘍細胞を攻撃できるようになると考えられている。ヘルパー T 細胞はがん抗原特異的な抗体産生能を持つ B 細胞応答を補助することもでき、B 細胞が産生した抗体による腫瘍細胞死のメカニズムも想定されている。

抗原提示及びそのプロセッシング、リンパ球の活性化、腫瘍細胞死といった宿主免疫系による活性化されがん細胞を攻撃する臨床効果を発揮するまでには、従来の抗がん剤と比べ生体内でかなりの時間を要すると考えられている。したがって、がんワクチンの開発には従来のバイオ医薬品及び化学合成による抗悪性腫瘍薬とは異なり、遅発性の臨床効果を評価できるような試験計画を立案する必要があると考えられる。

1.3 適用範囲

本ガイドラインは治療用がんワクチンを対象とし、がんの予防に用いるワクチンや感染症を対象としたワクチンは対象としない。また、がん細胞を直接攻撃して治療効果を発揮するとされる T 細胞や NK 細胞を利用した適応免疫製剤についても対象外とする。

なお、上記以外の細胞医薬品や遺伝子治療用医薬品等のがんワクチンについては対象としないが、臨床評価等に当たっては適用できる部分もあると考えられるので、適時参照することが望ましい。

2. ペプチドやタンパク質からなるがんワクチンの品質

がんワクチンとして用いられる化学合成ペプチドとしては 8 - 9 アミノ酸からなる単鎖ペプチドと 25 アミノ酸以上の長鎖ペプチドが用いられている。これらの化学合成ペプチドの品質特性解析では、化学合成薬品としての評価が有用な場合があると考えられる。確認試験では、FT-IR や質量分析による解析が利用可能である。また、純度試験に関してはペプチド合成に用いられる保護基及び

資料2 最終案

保護基の脱離剤、化学合成時における不十分な合成体や分解物等の解析が求められる。規格設定では、日本薬局方に収載されているペプチド医薬品の各条を参考にできるであろう。ただし、分岐鎖を持つ複雑なペプチド製品では、従来の解析手法では十分な構造解析ができない場合があることに留意すべきである。

一方、タンパク質や融合タンパク質では、ICH Q6B に従った組換えバイオテクノロジー応用医薬品としての品質特性解析が求められる。

一方、生物活性の評価としては、*in vivo* での免疫誘導能を解析することが考えられるが、ヒトでの免疫誘導を動物で評価することは必ずしも容易ではない。また *in vitro* で免疫誘導能を生物活性として評価する標準的な手法が必ずしも確立されているとはいえない。

樹状細胞などの抗原提示細胞でのクロスプレゼンテーションを示すことができれば有効性を期待する情報となると考えられている。ただし、臨床効果との相関については十分に明らかにされていない点があることや手法的な限界も想定されていることも念頭におく必要がある。

3.がんワクチンの免疫学的評価

3.1 免疫応答性評価

がんワクチンの作用メカニズムとしては、投与されたがん抗原刺激により患者のがん細胞に対する免疫反応を誘導ないしは増幅することにより抗腫瘍効果を発現すると考えられている。

また、臨床試験、特に Proof of Concept (POC) 等々を評価する初期臨床試験では、免疫反応性のモニタリングが重要な評価項目となる。特に薬理学的効果や投与する抗原に対する免疫反応性を示すことが、がんワクチンの有効性を裏づける必要条件となるデータとなっていくことが想定される。また、有効性の評価と相関が認められた場合には、患者選択のための指標となることも想定され、コンパニオン診断薬の開発の必要性も念頭に置く必要があると考えられる。免疫反応性のモニタリングの一つとして、抗原特異的な T 細胞の応答性や標的とするがん抗原に対する液性免疫が測定される。但し、液性免疫に対する応答性のみでは、がん細胞に対する細胞性免疫応答の評価には必ずしも結びつくわけではないため、がんワクチンで想定されている免疫応答を評価する代替指標とすることは困難であろう。

(1) 評価方法について

長鎖ペプチド以上の大きさのがんワクチンの投与に対して期待されている免疫応答には、複数のステップが介在していると考えられている。まず、がん抗原又はがん抗原の一部であるペプチド及びタンパク質等が、樹状細胞などの抗

資料2 最終案

原提示細胞による細胞内プロセッシングを受けた後、HLA クラス 1 依存的に抗原提示される。続いて、抗原提示に対応する特異的な T 細胞受容体をもつ細胞傷害性 T 細胞が活性化され、がん細胞を攻撃する。同時に、HLA クラス 2 依存的にヘルパー T 細胞が活性化され、細胞傷害性 T 細胞の活性化や液性免疫の活性化も行くとされる。がんワクチンの開発に際しては、このような複数の免疫担当細胞の活性化を評価することが重要であり、以下のような複数のアッセイ法を用いて解析することが望ましい。特に、細胞傷害性 T 細胞やヘルパー T 細胞の応答性を区別して評価することが重要と考えられる。

- 目的がん抗原によって増幅する T 細胞サブセット（CD8 陽性や CD4 陽性細胞）の定量
- テトラマーアッセイによる、細胞傷害性 T 細胞（CD8 陽性 T 細胞）及びヘルパー T 細胞（CD4 陽性 T 細胞）細胞数の測定。ただしクラス II テトラマーについてはそれほど多くの経験が蓄積されていないことから慎重な評価が必要と考えられる。
- ELISPOT アッセイによる抗原特異的にサイトカインを放出する T 細胞の検出。
- ELISPOT と同様に *in vitro* で T 細胞を培養し、抗原刺激によるサイトカイン産生と同時に Monensin 等の細胞内タンパク質輸送を阻害する薬剤を用いてサイトカインの細胞外への放出を阻害することにより細胞内に蓄積され、細胞内に蓄積したサイトカインを蛍光標識抗体で標識し、フローサイトメトリーを用いて解析することにより抗原刺激に応答する細胞を検出する（細胞内サイトカインアッセイ）。CD8 や CD4 の発現を同時に解析することも可能である。
- がんワクチンとして長鎖ペプチドやタンパク質を用いる場合、免疫応答によりどのようなペプチドが認識されるようになるかあらかじめ特定できない場合がある。このような場合に免疫応答により認識されるペプチドを特定するためにいくつかの方法が用いられている。例えばがん抗原の一次配列を網羅するようなペプチドライブラリーを用いて T 細胞を刺激し ELISPOT アッセイを行うなどが行われている。ペプチドライブラリーの感度等について十分な評価を行う必要がある。
- ペプチド特異的 CD8 陽性細胞や CD4 陽性細胞の末梢血中の頻度が極めて低い可能性がある。高感度に測定するために細胞の濃縮操作なども行われている。濃縮操作によってもとの血液中の比率と異ならないことを確認する必要がある。

資料2 最終案

細胞応答性を解析する以上のアッセイ法は単なる例示であり、がんワクチンによって引き起こされる免疫応答の解析で実施しなければならないアッセイというわけではない。特にがんワクチンの免疫応答性の評価系については開発が急速に進歩しており、より最適な手法を用いることも可能となることが想定され、また対象としている抗原によっても利用可能な試験法が異なると考えられる。

また、免疫応答に寄与する T 細胞数は末梢血中では極めて少ないとされ、上記のモニタリング法の感度を上げる様々な工夫が試みられている。高感度化した試験を実施する場合には試験法が適切に T 細胞集団を反映する方法であることを示す必要がある。

(2) 開発戦略について

特定の TCR をもつ T 細胞に反応する HLA クラス 1 及び 2 に抗原提示されるペプチドを結合させたテトラマー解析により、がん抗原に反応する HLA 型の特定や HLA 拘束性のがんワクチンの活性評価が可能になるかもしれない。がんワクチンの免疫応答性の評価ではどのような HLA 型の患者に有用な治療であるのかを明らかにすることが重要と考えられる。

(3) 評価方法のバリデーションについて

抗腫瘍効果に関連すると考えられる免疫応答性を評価するためのアッセイ法の開発や標準化が必要とされる。特に、生細胞の反応性を解析することから、検体の採取から輸送による影響や凍結して保存する場合の凍結操作の影響について評価をしておく必要がある。また、がんワクチンの投与を受けた患者の経時的な変化を測定するために、異なる日に測定された T 細胞の応答性を比較可能なように測定法の標準化ができておく必要がある。

開発したアッセイ法のバリデーションでは、試験実施施設が異なっても、免疫応答のバラツキを十分コントロールできることを示す必要がある。アッセイ条件、感度と特異性のコントロール、*in vitro* での T 細胞の増幅工程、陽性及び陰性コントロールの設定、カットオフ値の設定、標的分子による対象患者の選択の要否、試験結果を解析するための統計分析手法等については、臨床試験を開始する前に明確にしておく必要がある。

テトラマーアッセイや ELISPOT アッセイなどは、通常、患者の末梢血よりリンパ球を含む検体を分離して、試験に供する。腫瘍組織からリンパ球を採取してこれらの T 細胞応答性を解析することにより、期待される腫瘍組織内での免疫応答をモニタリングすることにつながるかもしれない。場合によっては腫瘍

資料2 最終案

近辺のリンパ節中の細胞傷害性 T 細胞やヘルパー T 細胞数、さらには制御性細胞 (Treg) 等も免疫応答のモニタリングの対象となりえる。

末梢血を用いてがん抗原特異的あるいは特定の標準抗原に対する液性免疫の継続的な変化をモニタリングすることが、患者の免疫状態の応答性を評価するのに有用であるかもしれない。

3. 2. がんによる免疫抑制

宿主免疫反応から逃れるために、がん細胞はさまざまな因子を介した免疫抑制作用を発揮するとされている。また、がん化学療法は宿主免疫応答性を抑制することが多い。これらの免疫抑制に対して、がん患者の免疫抑制状態からの解除を目的とした併用薬が使用される場合もありうるが、このような併用薬を使用する場合にはがん免疫の応答性のみならず、免疫抑制状態からの解除をモニタリングすることも有用と考えられる。

がんによる免疫抑制にはいくつかの因子が介在するとされており、その一つとして Treg 細胞の関与が報告されており、Treg 細胞によりがん特異的な細胞傷害性 T 細胞やヘルパー T 細胞の阻害やアポトーシスが起これるといわれる。そのために末梢血や腫瘍内の Treg 細胞数をモニタリングすることによりがん免疫が有効に機能するか評価する上で有用である可能性がある。ただし Treg 細胞には複数の種類があることが知られており、がんによる免疫抑制にどの Treg 細胞が最も重要に作用しているかについて明確になってはいないと考えられる。また、末梢血中の Treg 細胞のみならずがんに浸潤している Treg サブセットを解析することにより有用な情報が得られる可能性もある。

Treg 細胞以外にもがん免疫抑制に関与する Th17 サブセットや PD-1/PD-L1 応答などが提唱されているものの、これらの因子が、がんによる免疫抑制への寄与の程度及び臨床的な重要性については不明の点も多い。しかしながら、がんワクチンの開発において、定量的にモニタリング可能な解析手法により、想定したがん免疫抑制機構の解除を確認することが臨床的有効性との相関を含めて必要とされる。このために T 細胞の免疫応答性のみならず、標準抗原等への免疫応答性の解析、あるいは遅延型過敏反応の変化のモニタリングも考慮するべきと考えられる。

がんワクチンで目的とするがん抗原が特定されていない場合には、インフルエンザウイルスや破傷風菌などに対する遅延型過敏反応を測定することにより、患者の免疫応答能の強さを評価することも有用な場合もあると考えられる。免疫応答性の強さを評価するために、既知抗原（例えば、がんワクチンの融合タンパク質として利用される keyhole limpet hemocyanin, 液性免疫としての破傷風抗原、細胞性免疫の指標としての phytohemagglutinin への応答性）に対する